



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**GUSTAVO LESSA BENEDET**

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE INOCULANTE LÍQUIDO  
COMERCIAL PARA PRÉ-INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE SOJA COM  
TRATAMENTO QUÍMICO ATÉ 60 DIAS ANTES DO PLANTIO E UTILIZAÇÃO DE  
PROTETOR CELULAR**

**BRASÍLIA - DF**

**2016**

GUSTAVO LESSA BENEDET

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE INOCULANTE LÍQUIDO  
COMERCIAL PARA PRÉ-INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE SOJA COM  
TRATAMENTO QUÍMICO ATÉ 60 DIAS ANTES DO PLANTIO E UTILIZAÇÃO DE  
PROTETOR CELULAR

Trabalho de Conclusão do Curso de Agronomia - Universidade de Brasília,  
como exigência parcial para obtenção do diploma de graduação em Engenharia  
Agronômica.

Orientador (a): Dra. Alessandra Monteiro de Paula

Coorientador: Dr. Fábio Bueno dos Reis Junior

BRASÍLIA - DF

## **AGRADECIMENTOS**

Quero agradecer, em primeiro lugar, a Deus, pela força e coragem durante toda esta longa caminhada.

À minha família, por sua capacidade de acreditar e investir em mim. Mãe, seu cuidado e dedicação foram que deram, em alguns momentos, a esperança para seguir. Minha irmã Andréa, sempre disposta a me ajudar no que for preciso.

À professora Dr. Alessandra Monteiro de Paula pela paciência na orientação e incentivo que tornaram possível a conclusão desta monografia.

Ao Dr. Fábio Bueno dos Reis Junior por seus ensinamentos, paciência e confiança ao longo das supervisões das minhas atividades na Embrapa. É um prazer tê-lo na banca examinadora.

À Dra. Ieda de Carvalho Mendes por me dar a oportunidade de estagiar na Embrapa Cerrados complementando em minha formação acadêmica e dando oportunidade de conhecer pessoas tão queridas.

Aos amigos e colegas Brendo Ramos, Raquel Pires, Raquel Nóbrega, Claubson Pacheco, Jéssica Souza, Heber Ribeiro, Reginaldo Neto e Karolyne Lopes, pelo incentivo e pelo apoio constante para conclusão deste trabalho.

Agradecer ao Felipe Mont'Alvão pelas dicas de experiência própria com seu trabalho de conclusão de curso.

Agradecer especialmente Lucas Rolim e Clodoaldo Alves de Souza por sempre estarem dispostos a resolver e ajudar nos problemas que surgiram nesse percurso até este trabalho.

*Agradeço* ao mundo por mudar as coisas, por nunca fazê-las serem da mesma forma, pois assim não teríamos o que pesquisar, o que descobrir, pois através disto consegui concluir a minha monografia.

## RESUMO

A utilização bactérias simbiontes em inoculantes para a cultura da soja é uma tecnologia importante que vem sendo muito abordada recentemente, quanto à forma correta de aplicação e suas novas possibilidades. O atual trabalho, com experimentos conduzidos em campo e em casa de vegetação, teve por objetivo avaliar o efeito da utilização de um inoculante contendo *Bradyrhizobium* spp. associado a um protetor celular comercial em sementes de soja tratadas com três produtos defensivos químicos aos 30, 45 e 60 dias antes do plantio. Foram analisados, o número de células de rizóbios por semente, número e massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e a produtividade da soja. Houve redução da presença de células viáveis de rizóbios aderidas às sementes em razão da inoculação antecipada e tratamentos com produtos inseticidas e fungicidas. Apesar do número de células por semente ter sido alterado, a inoculação antecipada garantiu uma nodulação comparável ao controle inoculado no dia do plantio, sem tratamento de sementes com pesticidas. Como não foram observadas diferenças entre o controle não inoculado e os demais tratamentos, com relação a produtividade das plantas, no experimento de campo, respeitando as normas estipuladas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), não foi possível uma conclusão sobre a eficiência agrônômica dos produtos testados.

Palavras-Chave: *Glycine max*; *Bradyrhizobium*; Nitrogênio; Fixação Biológica de Nitrogênio; Protetores Celulares; Tratamento de Sementes.

## ABSTRACT

The use of symbiotic bacteria in inoculants for soybean cultivation is an important technology that has been subject of interesting discussions about its correct form of application and new possibilities. The present work, with experiments conducted in the field and greenhouse, had the objective of evaluating the effect of the utilization of a commercial inoculant containing *Bradyrhizobium* spp. associated with a cellular protector in soybean seeds treated with three chemical defensive products at 30, 45 and 60 days before planting. The number of rhizobia cells per seed, number and dry mass of nodules, shoot dry mass and soybean yield were analyzed. The presence of viable rhizobia cells adhered to the seeds was diminished by the early inoculation, when using insecticide and fungicide treatments. Although the number of cells per seed was altered, early inoculation ensured a nodulation comparable to the control inoculated on the day of planting without treatment of seeds with pesticides. As no differences were observed between the uninoculated control and the other treatments, in the field experiment, in compliance with the rules stipulated by the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA), it was not possible to conclude on the agronomic efficiency of the tested products.

Key words: *Glycine max*; *Bradyrhizobium*; Nitrogen; Biological Nitrogen Fixation; Cellular Protectors; Seed Treatment.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	7
2	OBJETIVOS .....	8
3	HIPÓTESES.....	8
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	8
4.1	Histórico .....	8
4.2	Importância econômica da soja no Brasil .....	9
4.3	Características Agronômicas.....	11
4.4	Fatores Limitantes no cultivo da soja.....	11
4.5	Principais Doenças da Soja.....	16
4.5.1	Antracnose( <i>Colletotrichum truncatum</i> ).....	16
4.5.2	Ferrugem ( <i>Phakopsora sp</i> ).....	16
4.5.3	Mancha Olho de Rã ( <i>Cercospora sojina</i> ).....	17
4.6	Fixação biologia de Nitrogênio e Inoculantes para Soja .....	17
4.7	Inoculantes para soja e Compatibilidade com Tratamentos Químicos .....	20
4.8	Pré-inoculação de sementes e o uso de protetores celulares .....	21
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
5.1	Característica da Cultivar .....	27
5.2	Condução do experimento na Casa de Vegetação .....	27
5.3	Condução do experimento no Campo .....	30
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	32
6.1	Avaliações do inoculante e número de células nas sementes antes do plantio	32
6.2	Experimento realizado na Casa de Vegetação .....	35
6.3	Experimento realizado em campo.....	37
8	CONCLUSÕES .....	41
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	42

## 1 INTRODUÇÃO

Hoje a sustentabilidade e o cuidado com meio ambiente têm sido preocupações comuns na mente das pessoas, o que despertou necessidade de promover o avanço de tecnologias em prol da natureza. O consumo de fertilizantes tem crescido vertiginosamente mas, como são produzidos com a utilização de recursos naturais finitos, metodologias novas devem ser incorporadas ao processo produtivo agropecuário, a fim de se buscar recursos e formas mais viáveis com o foco em uma agricultura mais sustentável. A inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio e/ou promotoras de crescimento de plantas é uma dessas tecnologias que surgiram para contribuir com a economia do uso de fertilizantes.

A soja é uma planta muito exigente em nitrogênio e com sua evolução tornou-se capaz de estabelecer relações simbióticas com um grupo de bactérias diazotróficas. Essa relação possibilitou a soja o suprimento de nitrogênio necessário para seu desenvolvimento, que em contrapartida fornece fotossimilados às bactérias simbiontes. Esses processos biológicos vêm sendo cada vez mais estudados, a fim de contribuir para a disponibilização de nutrientes não prontamente disponíveis. As bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, possuem capacidade de produzir enzimas como a dinitrogenase, que auxiliam diretamente na transformação do nitrogênio atmosférico em amônia (HUNGRIA et al., 2011).

Pesquisas geradas ao longo do tempo, no Brasil, têm produzido trabalhos com objetivo de avaliação da eficiência dessa relação simbiótica e têm se estudado metodologias para maximização desse processo. Vários fatores podem alterar essa relação. Das condições de campo ao plantio, como temperatura, umidade, entre outros, além das metodologias de inoculação, que estão relacionadas à concentração do inoculante aderido à semente, ou presença de bactérias estabelecidas no solo que podem afetar a eficiência da fixação biológica de nitrogênio.

A utilização de defensivos juntamente com a inoculação é um assunto que vem sendo discutido com veemência. Alguns trabalhos demonstram a toxicidade desses produtos à vitalidade das bactérias simbiontes, fator que deve ser



analisado com o devido cuidado. Atualmente, a pré-inoculação é um assunto em questão, sendo importante a avaliação de seus requisitos para uma metodologia com eficiência agronômica. Empresas produtoras de inoculantes e insumos estão preocupadas com a viabilidade do uso conjunto desses elementos e têm desenvolvido produtos como protetores celulares, que possibilitam a sobrevivência de células a efeitos adversos do ambiente.

## **2 OBJETIVOS**

- Avaliar a recuperação de células de *Bradyrhizobium* em sementes de soja tratadas com os produtos A: Bifentrina + Imidacloprido (inseticida); B: Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil (fungicida/inseticida); e C: Metalaxil + Fludioxonil (fungicida); e inoculadas aos 60, 45 e 30 dias antes do plantio com inoculante para pré-inoculação associado a um protetor celular;

- Avaliar a eficiência simbiótica e agronômica da inoculação aos 60, 45 e 30 dias antes do plantio, em sementes de soja tratadas com os produtos A: Bifentrina + Imidacloprido (inseticida); B: Piraclostrobina + Tiofanato Metílico + Fipronil (fungicida/inseticida); e C: Metalaxil + Fludioxonil (fungicida); utilizando um inoculante para pré-inoculação associado a um protetor celular.

## **3 HIPÓTESE**

A pré-inoculação, até 60 dias antes do plantio, com o uso de protetor celular em conjunto com inoculante para soja contendo bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Bradyrhizobium* garante a sobrevivência das células de bactérias e, conseqüentemente, a mesma eficiência simbiótica e agronômica que o inoculante convencional utilizado no dia do plantio.

## **4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **4.1 Histórico**

A soja (*Glycine max* L. Merrill) tem como seu centro de origem o continente asiático e permanece como componente da alimentação humana por mais de

5000 anos. Foi citada na obra “Matéria Médica”, escrita por volta de 2838 A.C., onde constava em um herbário no antigo império de Shen Nung. Esse imperador da antiga China era considerado o pai da agricultura e medicina, ensinou aos povos nômades técnicas de aração e semeadura, adotando a soja como um dos seus grãos sagrados(CÂMARA, 1998).

Essa cultura permaneceu no oriente até o século XVI sem se difundir pelo mundo, devido à falta de transações comerciais entre continentes. Pesquisadores obtiveram sementes de soja entre o século XIV e XIX e distribuíram para outros países do ocidente, onde estudos começaram a ser realizados para estabelecer formas de se aumentar a produtividade e melhorar seu desenvolvimento. A Soja foi introduzida no Brasil, na Bahia, em 1882, sem sucesso. Após ser cultivada em várias regiões, em 1914, foi o estado do Rio Grande do Sul que tornou possível a primeira exportação brasileira de soja, com pouco mais de 18 mil toneladas (CÂMARA, 1998).

No estado do Rio Grande do Sul as cultivares trazidas dos EUA foram as que mais se adaptaram em relação às condições de solo, fertilidade, e clima. Após a segunda guerra mundial, com o avanço dos defensivos químicos o governo implantou políticas públicas que possibilitaram um grande salto no avanço da produção, através da revolução verde. Por volta dos anos 80 essa cultura se adaptou bem ao Cerrado levando progresso e desenvolvimento para o Centro-Oeste brasileiro e, posteriormente, a cultura já estava adaptada à praticamente todo o Brasil, com o incentivo e desenvolvimento do melhoramento genético (FREITAS, 2011).

#### **4.2 Importância econômica da soja no Brasil**

A soja hoje é considerada uma das culturas mais importantes do território brasileiro, por consequência de sua grande área plantada e seus subprodutos, gerando valor e movimentando a economia. No Brasil, a soja é amplamente utilizada para diversos fins, porém, grande parte é destinada à exportação. Atualmente a área plantada de soja em relação ao ano passado teve um acréscimo de 3,6% (2015), com projeção de crescimento na produção entre 6,5% a 8,5% neste ano, podendo alcançar 101,6 a 103,05 milhões de toneladas

(COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - (CONAB, 2016). O maior importador da soja produzida no Brasil é a China. O óleo e o farelo de soja são destinados em maior volume para a Índia e Europa, respectivamente (DEPEC, 2016). O consumo de insumos como fertilizantes e defensivos também tem acompanhado a expansão e desenvolvimento da soja, por consequência de pacotes tecnológicos, que é a venda casada de sementes com insumos específicos estipulados pelas grandes empresas multinacionais, detentoras dessas tecnologias. (OSAKI, 2008)

Hoje, a soja é uma das principais culturas cultivadas no Brasil chegando a 48,45% do total produzido, com estimativa de 102,5 milhões de toneladas (MARQUES et al., 2016). Esse avanço se deu pelo desenvolvimento de tecnologias como maquinário mais sofisticado, estudos mais detalhados com o manejo do solo, adubações, calagens, utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio, formulações de defensivos para controle de pragas e doenças e o principal, o melhoramento genético, que possibilitou a alta produção em locais mais secos e de baixa altitude, atrasando florescimento mesmo em lugares com fotoperíodo indutor, possibilitando ser cultivada em diversas regiões do país (FREITAS, 2011). A expressão genética dessa planta está intimamente relacionada com o ambiente. Por decorrência das variações ambientais em diversas regiões do país, o gene da produtividade exerce baixa herdabilidade, dificultando a seleção e avaliação do potencial produtivo dos genótipos (ALMEIDA et al., 1999).

Nos dias atuais há uma grande preocupação com o meio ambiente e o cultivo de soja, assim como outros grãos, está em expansão econômica e territorial. Por isso, a Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais e a Associação de Exportadores de Cereais, em 2006, assumiram o compromisso de não comprarem soja provenientes de cultivos realizados em zonas localizadas no bioma amazônico. Essa atitude tem como objetivo conservar o bioma Amazônico e garantir a produção de alimentos de forma sustentável e responsável, respeitando o meio ambiente (MILKO, 2008).

### 4.3 Características Agronômicas

A soja é identificada pelo seu hábito de crescimento e seus requerimentos em comprimentos do dia. Sua floração e maturação são estimuladas diretamente pelo comprimento e duração de luz solar disponível, sendo uma planta sensível ao fotoperíodo. O hábito de crescimento indeterminado é característico da maioria das cultivares de soja, que é identificado pelo crescimento vegetativo após alcançar o estágio reprodutivo, aonde muitas das plantas cultivadas param de crescer vegetativamente (FARIAS et al., 2007). O desenvolvimento da soja é conduzido observando etapas de crescimento e estádios fenológicos, que facilitam o entendimento de técnicos, extensionistas, pesquisadores, produtores e demais profissionais da área agrônoma.

O manejo também é facilitado pelo fato de que cada estágio requer quantidades de recursos diferentes, como nutrientes, água, luz e etc. **VE** – Vegetativo, Emergência, **VC** – Vegetativo, Cotilédone, **V1** – Vegetativo 1 (Primeiro nó que se dá pelo desenvolvimento completo das folhas unifoliadas), **V2** – Vegetativo 2, **V3** – Vegetativo 3, e assim por diante até **Vn**, onde se observa diferenciação das gemas em pequenos brotos dando início a fase reprodutiva. Por conveniência, a fase reprodutiva se identifica pela letra R. **R1** – Início do Florescimento, **R2** – Florescimento Pleno, **R3** – Início da formação da Vagem, **R4** – Vagem completamente desenvolvida, **R5** – Início do enchimento dos grãos, **R6** – Enchimento Completo (Quando o grão cresce e ocupa os espaços da vagem), **R7** – Início da maturação, **R8** – Maturação plena (FARIAS et al., 2007).

### 4.4 Fatores Limitantes no cultivo da soja

Os elementos climáticos que mais interferem no desenvolvimento da soja são a temperatura, fotoperíodo e disponibilidade hídrica. A temperatura ideal da maioria das cultivares de soja fica na faixa entre 20°C e 30°C.(FARIAS et al., 2007).

Temperaturas muito altas na fase de germinação (acima de 30°C) fazem com que a planta cresça de forma acelerada e tenda a ficar estiolada, chamado de dumping-off pós-emergência, causando má formação da plântula podendo ocorrer tombamento. (GODOY et al., 2014)

Temperaturas abaixo da faixa fazem com que o metabolismo da semente diminua, deixando seu crescimento mais lento, ocorrendo dumping-off pré-emergência, tendo seu desenvolvimento afetado ou até comprometido. A relação das temperaturas máximas e mínimas para emergência é denominada de temperaturas cardiais. A temperatura também afeta o desenvolvimento e crescimento de bactérias simbióticas que auxiliam a soja na fixação de nitrogênio, nutriente essencial para cultura completar o seu ciclo com alta produção. A temperatura interfere na floração, que não ocorre abaixo de 13°C e é acelerada por temperaturas mais elevadas com limite por volta de 32°C (LUDWIG et al., 2010).

O Fotoperíodo é um fator altamente interligado com o desenvolvimento da soja, juntamente com a temperatura. Devido ao avanço tecnológico, o melhoramento contribuiu para a adaptação de cultivares para diferentes regiões, por isso cada cultivar tem sensibilidade à fotoperíodo diferente (LIMA, 2014). O ciclo da soja geralmente varia de 100 a 160 dias, porém com quantidade de luz solar e radiação mantidas acima do ponto crítico, a soja tende a continuar com seu crescimento vegetativo, não mobilizando grande parte dos nutrientes para o desenvolvimento do estágio reprodutivo (LIMA, 2014). Por isso, a planta é considerada de dias curtos. Com quantidade de luz abaixo do desejado ela floresce, e acima, vegeta.

À medida que o local de plantio se afasta da linha do equador a amplitude do fotoperíodo aumenta, tornando mais viável o cultivo de variedades e cultivares com período juvenil mais longo, que são mais adaptadas às diversas latitudes, tornando mais fácil o manejo e o planejamento de épocas de plantio em diferentes locais (LIMA, 2014).

A disponibilidade de água é a principal limitação no desenvolvimento da soja, apesar de toda tecnologia desenvolvida ao longo do tempo esse fator é o mais limitante. Com o decorrer do ciclo a cultura vai exigindo mais água até a fase de enchimento de grão, chegando à necessidade de 7 a 8 mm/dia, totalizando no final do seu desenvolvimento entre 450 e 800 mm de água (FARIAS et al., 2007).

O déficit hídrico atrapalha a emergência da plântula, momento crucial para se obter uma planta de boa performance. A água também é importante para a

uniformidade no lote e para que ocorra simbiose entre bactérias fixadoras de nitrogênio e a soja. Em caso de veranico (longo período sem chuva em época considerada chuvosa) mesmo após a planta estar bem desenvolvida (nos primeiros estádios vegetativos), a interação entre as bactérias diazotróficas e a planta ainda pode ser altamente afetada, comprometendo o desenvolvimento de ambas as partes. A falta de água também altera a produtividade na fase de enchimento de grãos, momento que a planta mais necessita de água e nutrientes (MORANDO et al., 2014). Com o melhoramento já se observam cultivares mais tolerantes à seca e veranicos, não comprometendo totalmente a safra, porém seu rendimento é ainda afetado (MORANDO et al., 2014).

O Espaçamento necessário para o cultivo da soja varia muito com a cultivar, por consequência das suas exigências e também das características do solo. As plantas competem por nutrientes, luz e espaço. Em geral, para a maioria das cultivares, há uma variação entre 10 e 20 plantas por metro linear, ou de 200 a 450 mil plantas por hectare, com espaçamento entre linhas de 0,4 a 0,5 metros, possibilitando fechamento mais rápido e otimizando o controle de plantas daninhas (FILHO, 1980).

A época de plantio varia com a cultivar e com a região, sendo a disponibilidade de água e o fotoperíodo fatores mais decisivos para escolha exata do período de semeadura. O ciclo da soja varia de precoce, média e tardia, considerado precoce variando de 95 a 110 dias, média de 120 a 130 dias e tardia de 145 dias (TRENTIN et al., 2013). As cultivares, em geral, apresentam grupos de maturação de 6,0 a 8,0, nomenclatura utilizada com o fim de informar a qual ciclo a cultivar pertence. Portanto, o plantio se estende de novembro até início de janeiro, período com maior disponibilidade hídrica (época de chuva no centro-oeste) e fotoperíodo adequado. A mesma cultivar pode apresentar grupo de maturação diferente, dependendo da região que ela é semeada, pelo fato de que a duração de luz solar e temperaturas modificam com o avanço da latitude (LIMA, 2014).

A altitude ideal para a soja varia de 500 a 1400 metros, com altura de plantas entre 60 e 90 cm e com números de vagens por planta variando em torno de 30 a 90 (CARLOS et al., 2016).

Nos solos do Cerrado ocorrem também as classes Latossolo Vermelho Amarelo, Neossolos Quartzarênicos e Argissolos. Em geral, são solos com grande quantidade de alumínio (tóxico as plantas), pobres em Ca e Mg, deixando o solo ácido até em camadas mais profundas, prejudicando o desenvolvimento das raízes (RUGGIERO et al., 2006). A calagem e a utilização de gesso são necessários para cultivo da soja, para elevar o pH na faixa de 5,5 a 6,0, onde a maioria dos nutrientes são disponibilizados à planta e para neutralização do alumínio. A realização desse procedimento é recomendada para no mínimo três meses antes do plantio, para uma incorporação e reação eficiente no solo. A metodologia indicada na região de Cerrado é por saturação por bases, utilizando a análise do solo e uma fórmula que engloba a soma de bases, quantidade de alumínio e a necessidade ideal de saturação da cultura a ser plantada, expressando o resultado em toneladas por hectare (KORNDÖRFER, 1988).

Para realização do plantio são necessárias, além da correção de acidez, a correção de nutrientes, para tentar alcançar o equilíbrio de disponibilidade entre os elementos. É realizada então a adubação corretiva (com base na análise de solo) antes do plantio e adubação de manutenção (com base na necessidade da planta), após o plantio. Quanto mais parcelada for a adição de nutrientes, mais eficiente será a absorção desses pelas plantas, por consequência da imobilização, lixiviação e volatilização de nutrientes, que podem se perder ao longo do tempo (SFREDO, 1991).

O elemento mais requerido pela cultura é o nitrogênio. Para produção de 3000 kg do grão por hectare é necessário a absorção de 250 kg de nitrogênio. A adubação nitrogenada não é necessária na soja por decorrência da fixação biológica desse nutriente, que por sinal é bem eficiente nessa cultura. Se for feita adubação com formulados N-P-K, a porção do N não pode ultrapassar os 20kg por ha por ano. Acima dessa quantidade, além de se estar jogando dinheiro fora com a adubação, pode-se também atrapalhar a relação entre a bactéria e a planta (BORKERT et al., 1994).

O fósforo, em sua maior parte, encontra-se indisponível para as plantas, se concentrando em formas não lábeis, adsorvidas no solo com muita força. Pela sua grande afinidade eletrostática com colóides do solo, a disponibilidade desse

elemento na solução é mínima, sendo necessária a adubação fosfatada, que varia com a produção estimada, com quantidade de fósforo já contida, e a quantidade de argila. A necessidade de fósforo varia de 50 a 240 Kg por ha por ano (CORRÊA et al., 2004).

O potássio está entre os nutrientes mais requeridos pela cultura da soja, principalmente na fase de enchimento de grãos.. Por ser um cátion, e os solos de Cerrado terem poucas cargas negativas, o potássio é um elemento facilmente lixiviado, havendo necessidade de parcelamento da adubação, aplicando parte no plantio e o restante quando a planta já está estabelecida em campo. A planta absorve até 18,5 kg de potássio por tonelada de grão produzida, necessitando de 20 até 120 kg por hectare por ano (MARCANDALLI, 2008).

O enxofre pode ser considerado um nutriente com grande potencial de ser lixiviado, encontrado em grande quantidade na matéria orgânica e disponibilizado à solução do solo por transformações biológicas. Geralmente, é recomendada a aplicação de 20 kg de enxofre por hectare por ano, podendo ser adicionado no momento do plantio (SFREDO, G. J.; LANTMANN, 2007).

O molibdênio auxilia a simbiose entre as bactérias que nodulam leguminosas e as plantas, aumentando a quantidade de enzimas como nitrato redutase e nitrogenase, necessárias para transformação de nitrogênio atmosférico (OLIVEIRA, 2010). O cobalto também influencia na absorção de nitrogênio via simbiose, atuando na produção de vitaminas necessárias na síntese de leghemoglobina, que determina a atividade dos nódulos. Ambos os elementos são altamente afetados pela acidez do solo (MARCONDES; CAIRES, 2005). Os demais micronutrientes são recomendados para aplicação no solo, no momento do plantio, na seguinte quantidade: Boro (0,5 a 1 kg/ha), Zinco (4,0 a 6 kg/ha), Manganês (2,5 a 6 kg/ha) e Cobre (0,5 a 2 kg/ha). A aplicação foliar ou via sementes é feita em doses menores (VITTI; TREVISAN, 2000).

Além dos fatores ambientais que afetam a produção de soja, cabe destacar algumas das principais doenças da cultura, em especial aquelas provocadas por patógenos de solo e cuja prevenção pode ser conduzida via tratamento de sementes.



## 4.5 Principais Doenças da Soja

### 4.5.1 Antracnose (*Colletotrichum truncatum*)

É a principal doença que afeta o cultivo de soja, incidindo na fase inicial da formação de vagens, no estágio reprodutivo R3 e R4. As vagens apresentam uma coloração escura, iniciada com estrias edemáticas e inchaço, que progridem à uma mancha enegrecida. O patógeno é favorecido pela temperatura e umidade alta. Além de promover lesões nos grãos de soja em campo, o principal problema se dá no armazenamento. A densidade de plantas pode interferir na proliferação. Plantas mais espaçadas tendem a produzir menos microclimas dificultando o estabelecimento e desenvolvimento do fungo (HENNING et al., 2005). Pode-se utilizar fungicidas como Carbendazim e fosfitos de cálcio e potássio, que além de combater o fungo, servem como de substâncias elicitoras promovendo o aumento do sistema imunológico da planta.

### 4.5.2 Ferrugem (*Phakopsora* sp)

A ferrugem americana, causada pelo fungo *Phakopsora meibomeai*, ocorre em temperaturas mais amenas, abaixo de 25°C. Raramente causa danos elevados. Já a ferrugem asiática (*P. pachyrhizi*) é extremamente agressiva, podendo causar danos econômicos (TADASHI; LAZZAROTTO, 2004). Incide sobre a parte aérea da planta, apresentando minúsculos pontos na parte superficial da folha com cor cinza-esverdeada, podendo ser observado com lupas. O molhamento da parte superficial da planta, por mais de 10 horas seguidas, favorece seu desenvolvimento. Seus uredósporos são facilmente translocados a longas distâncias pelo vento, facilitando sua disseminação. A planta infectada tem seu rendimento reduzido devido a queda de folhas e a ineficiência na fotossíntese. Com alta severidade, podem ocorrer abortamentos florais e das vagens (GODOY et al., 2014).

Para o controle deve-se usar rotação de cultura e fungicidas, tanto de contato, quanto sistêmicos, como azoxistrobin e fluquinconazole, em suas dosagens e horários recomendados. Ainda não foram lançados cultivares resistentes, porém, já se tem no mercado cultivares com certa tolerância, que

também podem auxiliar no manejo para diminuição da população fúngica (COSTAMILAN et al., 2003).

#### 4.5.3 Mancha Olho de Rã (*Cercospora sojina*).

Essa doença pode incidir sobre a soja em qualquer estágio de desenvolvimento, porém, sua maior ocorrência é observada na fase reprodutiva. Sua disseminação é facilitada pela chuva, vento, restos culturais e sementes infectadas. Temperatura e umidade alta favorecem sua permanência na área. Caracterizada por lesões necróticas, aparecendo principalmente nas folhas, mas também pode ser observada nas vagens e sementes, causando manchas escurecidas. Tecidos mais novos são mais susceptíveis à incidência desse patógeno. O plantio direto e a rotação de culturas auxiliam o controle dessa doença, assim como cultivares resistentes, tratamento de sementes e fungicidas do grupo químico das estrobilurinas (NICOLODI, 2012).

#### 4.6 Fixação biológica de Nitrogênio e Inoculantes para Soja.

A cultura da soja, ao longo dos anos se destacou com sua importância econômica em diversos países, inclusive no Brasil. Com isso vem se estudando e aprimorando tecnologias com objetivo de reduzir os custos de produção, aumentar seu potencial genético e, conseqüentemente, buscar maior eficiência no cultivo, trazendo maiores produtividades para diversas regiões. Uma dessas tecnologias desenvolvidas foi o aproveitamento da simbiose com microrganismos para o fornecimento de nitrogênio para as plantas, por meio da inoculação.

No caso da cultura da soja, que pertence à família das Fabáceas (anteriormente denominadas de Leguminosas), destaca-se o gênero de bactérias simbiontes conhecido por *Bradyrhizobium*, que possui espécies importantes como *B. japonicum*, *B. diazoefficiens* e *B. elkanii*, entre outras, inicialmente descritas como uma única espécie, denominada *Rhizobium japonicum* (HUNGRIA et al., 2001).

Essas bactérias realizam o processo de fixação biológica do nitrogênio (FBN). Apenas um grupo seletivo de bactérias possui a capacidade de converter o nitrogênio atmosférico (N<sub>2</sub>) em amônia (NH<sub>3</sub>), por meio da atividade da enzima

nitrogenase. Dessa forma, disponibilizam o nitrogênio diretamente para às plantas. Em simbiose com leguminosas, essas bactérias se ligam às raízes formando nódulos e é dentro desses nódulos onde o processo de fixação de nitrogênio ocorre (DUPRAT; CONTE, 2014).

No caso da soja, a inoculação, geralmente, é feita imediatamente antes do plantio, com objetivo de substituir a adubação nitrogenada. A economia gerada no Brasil por não se utilizar fertilizantes nitrogenados na cultura da soja é da ordem de 15 bilhões de dólares anualmente (HUNGRIA; MENDES, 2015).

Hoje, no Brasil, seria inviável o cultivo de soja sem inoculantes, pelo fato que a disponibilização de nitrogênio via fertilizantes minerais é muito cara e não sustentável. Para cada tonelada de amônia produzida são necessários seis barris de petróleo, recurso finito, sem contar com a poluição ambiental. A adubação mineral, além de ser cara, também não é muito eficiente, do total aplicado, pode-se perder até 50% do nitrogênio por meio de lixiviação, volatilização, entre outros processos (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000).

A simbiose entre a soja e a bactéria fixadora de nitrogênio pode ser afetada, principalmente, por decorrência de acidez no solo, toxidez de alumínio, salinidade, baixa fertilidade do solo, disponibilidade de nitrogênio mineral, deficiência de molibdênio e fósforo, baixa precipitação, altas temperaturas e competição com outras estirpes (FIGUEIREDO et al., 2000).

No processo de estabelecimento da simbiose, a planta, através dos seus exsudados liberados na região da raiz, estimula a multiplicação de bactérias, como *Bradyrhizobium* spp. que, pertencem ao grupo das bactérias conhecidas, de maneira genérica, como rizóbios. Primeiramente, a semente em germinação libera sua radícula que produz substâncias que atraem quimicamente os rizóbios, estimulando seu crescimento na rizosfera. Esses compostos liberados pela planta desencadeiam a expressão de diversos genes tanto da planta como da bactéria, possibilitando que as bactérias penetrem na raiz e que a planta desenvolva estruturas para proteção das mesmas, onde ocorre o processo de fixação biológica do nitrogênio, os nódulos (BINOTTO FAGAN et al., 2007).

A nitrogenase é composta por dois complexos proteicos formados pela ferro-proteína e a molibdênio-ferro-proteína, que são responsáveis pela fixação do

nitrogênio no nódulo, as custas de energia fornecida pela planta, através dos carboidratos produzidos na fotossíntese. Essa enzima tem melhor ação em condições anaeróbicas, portando a heme-proteína presente nos nódulos, chamada de leghemoglobina, se liga ao oxigênio presente, evitando oxidação da enzima (BURRIS, 1999). A redução do nitrogênio gasoso à amônia é auxiliada pela ferro-proteína que é reduzida se ligando ao magnésio ATP, que recebe elétrons e a transferem à enzima, molibdênio ATP, onde são anexados ao nitrogênio ( $N_2$ ) transformando-o em amônia (BURRIS, 1999).

A concentração de amônia aumenta e por difusão é transferida para o citosol da célula infectada. O contato com meio aquoso do citoplasma dos bacteroides transformam a amônia em amônio. Assim que se aumenta a concentração amônio nos bacterióides, a ação da enzima nitrogenase é diminuída. Com a ação das enzimas glutamina sintetase e a glutamato sintetase, o amônio é convertido em aminoácidos, que são assimilados pela planta. Essas enzimas não possuem efeito tóxico em relação ao amônio e são estimuladas na presença de energia, aumentando sua ação com decorrer do desenvolvimento dos nódulos (BURRIS, 1999).

A utilização de adubos nitrogenados no plantio da soja pode atrapalhar a interação entre bactéria-planta. Quando há nitrogênio disponível na solução do solo, é mais energeticamente viável para a planta absorvê-los em vez de se associar-se às bactérias (HUNGRIA et al., 2001).

A inoculação é o processo por meio do qual bactérias fixadoras de nitrogênio, selecionadas pela pesquisa, são adicionadas às sementes das plantas antes da semeadura. A inoculação é feita com um produto chamado inoculante. Para uma boa inoculação deve-se atentar às recomendações do fabricante do inoculante. Acondicionar o inoculante de forma correta, realizar a mistura de forma mais homogênea possível, não plantar sementes inoculadas em solos secos. O solo deve ser corrigido quanto à acidez e necessidade nutricional. Devem-se utilizar fungicidas recomendados para cultura e inocular em menos de 24 horas antes do plantio. São necessárias no mínimo 100.000 bactérias por semente para se obter boa nodulação. A concentração do inoculante juntamente

com a dosagem recomendada por saca de semente deve ser relacionada para se obter número desejado de rizóbios por semente (HUNGRIA et al., 2011).

#### **4.7 Inoculantes para Soja e Compatibilidade com Tratamentos**

##### **Químicos.**

Com o objetivo de se incrementar métodos para aperfeiçoar o desenvolvimento da soja, são recomendados a adição de pesticidas à semente antes do plantio. No entanto, foram relatados problemas quanto à mistura de inoculante com o tratamento químico. Os estudos realizados por Diatloff (1986) demonstram a interação de fungicidas sistêmicos e não sistêmicos com a simbiose, afirmando que fungicidas sistêmicos foram menos tóxicos ao *Bradyrhizobium* (FAGUNDES et al., 2013).

Fungicidas a base de metais pesados interferem no desenvolvimento e mesmo fungicidas orgânicos, também podem apresentar toxidez aos rizóbios. Essa toxidez pode afetar a quantidade de células viáveis inoculadas nas sementes, por decorrência do pH, princípio ativo e solventes utilizados na composição de defensivos. Fungicidas também alteram os exsudatos produzidos pelas raízes, transformando a camada adjacente às raízes, modificando a rizosfera, dificultando interações químicas para a ocorrência da simbiose. Segundo o estudo feito por Hoffmann (2000), o rendimento das plantas inoculadas, com adição de tratamentos químicos, reduziu em até 20% (HOFFMANN-CAMPO; KASTER, 2000).

Estudos realizados por Loduvino (2009) demonstraram a interação de fertilizantes, tratamentos químicos e inoculantes. Sementes adubadas e tratadas corretamente e com molibdênio e cobalto obtiveram melhor desenvolvimento. Também foi relatada a perda de eficiência da inoculação perante tratamento químico com fungicidas como Thiram e Carbendazim, evidenciada pela perda de células viáveis de rizóbios na semente (CONSALTER, 2009).

Diversos estudos indicam a toxicidade de tratamentos químicos aos rizóbios. Para se evitar problemas maiores desses efeitos negativos, segundo a Embrapa, não se recomenda a adição de fungicidas no preparo da semente juntamente com

inoculante microbiano, sendo a aplicação do rizóbio a última operação realizada antes do plantio (HUNGRIA et al., 2011).

Como uma alternativa para diminuir a ação do pesticida sobre o inoculante, a aplicação por aspersão em sulco de semeadura pode ser recomendada. Nesse caso, utiliza-se dosagens de concentrações altas de células viáveis de *Bradyrhizobium*, de no mínimo 2,5 milhões de células por semente. Outra forma de se obter resultados positivos com a adição de ambos os elementos (inoculante e pesticidas), é adicionando mais células bacterianas diretamente na semente, antes do plantio. Assim, mesmo que o pesticida mate boa parte das células simbiotes, ainda haverá o mínimo necessário de células para suprir o nitrogênio responsável pelo desenvolvimento da cultura da soja (HUNGRIA et al., 2011).

Para solos não colonizados com as bactérias simbiotes também é necessária a adição de concentrações maiores de inoculantes. Mesmo que o solo já esteja colonizado, é importante adicionar o inoculante (re-inoculação), para se obter incremento no rendimento, que se dá, em média, em torno de 10% (HUNGRIA et al., 2011).

#### **4.8 Pré-inoculação de sementes e o uso de protetores celulares**

Com o avanço de tecnologias voltadas para a soja, tem-se estudado maneiras de se realizar a aplicação de inoculantes líquidos de forma econômica e confiável. Recentemente foram sugeridos alguns manejos de inoculação em períodos distintos antecedentes ao plantio de soja, com utilização de protetores celulares. Esse manejo vem sendo amplamente discutido, gerando muita polêmica quanto à eficiência e sobrevivência de células de bactérias simbiotes em combinações com produtos para tratamento químico de sementes como fungicidas, inseticidas e micronutrientes.

O tratamento de sementes tem como objetivo a preservação e o aperfeiçoamento do desempenho de sementes permitindo sua máxima expressão genética. Nesses tratamentos de sementes, são utilizados defensivos químicos, produtos biológicos como inoculantes, substâncias estimulantes, micronutrientes entre outros (MENTEN; MORAES, 2010).

A pré-inoculação é um assunto recente e poucos estudos foram realizados no Brasil para se confirmar os efeitos desse manejo, porém, houveram relatos de efeitos negativos relacionados com a sobrevivência de células de bactérias simbiotes quando em contato com outras substancias adicionadas ao tratamento de sementes em manejos tradicionais. A pré-inoculação vem sendo estudada para aumentar a eficiência no processo de tratamento de sementes, economizando tempo para a semeadura (ZILLI et al., 2010).

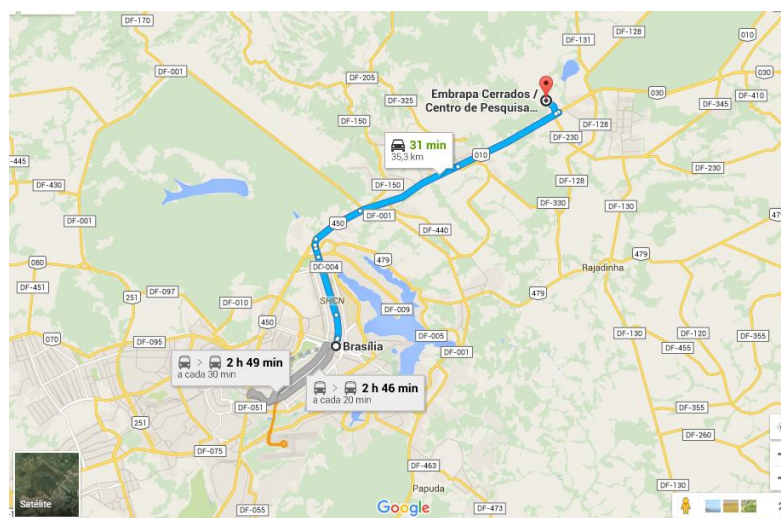
Diversos estudos foram realizados, informando o efeito tóxico de produtos químicos em tratamentos com inoculação padrão tradicional, o que despertou interesses, por parte de fabricantes de inoculantes e defensivos químicos, na busca por desenvolver produtos que possam diminuir ou evitar esses efeitos negativos na sobrevivência de células bacterianas do inoculante. Assim foram criados alguns produtos denominados de “protetores celulares”, que tem como objetivo proteger e garantir o desenvolvimento de bactérias simbiotes aderidas às sementes (MARKS, 2008).

Os protetores celulares, geralmente, têm formulações com bases lipídicas e substâncias oligossacarídicas, que possibilitam à célula do microrganismo formação de um microambiente na semente, reduzindo o efeito de desidratação das células e diminuindo o efeito oxidativo das membranas celulares. Atualmente há a necessidade de se estudar mais a fundo o uso desses produtos protetores com diversas combinações de tratamentos de sementes a fim de se constatar a eficácia e efeitos dos mesmos sob o desenvolvimento conjunto de microrganismos e planta (MARKS, 2008).

A oportunidade de se avaliar a eficiência agronômica de um produto para a pré-inoculação de sementes de soja com tratamento químico é fundamental para aumentar nosso conhecimento sobre essa nova tecnologia, que poderá trazer vantagens para o agricultor.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos, um em casa de vegetação e outro em campo, na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Cerrados (CPAC), localizada no município de Planaltina – DF (Figura 1). A área encontra-se em uma altitude por volta de 1040 metros, com temperatura média anual de 19,4°C (com variação de 3 °C). A média de precipitação anual é de 1371 mm. Sendo janeiro o mês com maior precipitação, 231 mm.



**Figura 1.** Mapa de Localização da Embrapa Cerrados

Fonte: Mapas Google\_ Embrapa- Cerrados.

## TESTE EM LABORATÓRIO

No laboratório foram feitas avaliações de concentração de células e recuperação das mesmas na semente, por meio da metodologia de diluição seriada em placas, baseadas nas recomendações descritas na Instrução Normativa SDA/ MAPA 30/2010 (D.O.U. 17/11/2010).

## CONTAGEM DE CÉLULAS DE *BRADYRHIZOBIUM* NO INOCULANTE LÍQUIDO

As amostras foram preparadas em capela de fluxo laminar, com utilização de tubos de ensaio contendo 9 mL de solução fisiológica de NaCl (0,85%). De cada amostra, duas subamostras “A” e “B” foram criadas para realização de uma média entre elas. Foi retirado 1 mL do produto inoculante líquido homogeneizado



e transferido para tubos de ensaio contendo a solução fisiológica para formação da primeira diluição. Esse procedimento de diluição foi repetido até encontrar valores de 30 a 300 células formadoras de colônias por placa.

Após as diluições, as amostras foram espalhadas com cuidado em placas de petri com meio de cultura YMA (Vincent, 1970), e postas para incubação no período de 5 a 8 dias com temperatura média de 30°C. Depois desse período foi realizada a contagem de números de colônias por placa. A média de UFC das subamostras foi calculada e multiplicada pela sua diluição respectiva e pelo fator de correção de alíquota, estipulando o número de unidades formadoras de colônia por mL de produto.

## **RECUPERAÇÃO DE CÉLULAS DE BRADYRHIZOBIUM EM SEMENTES DE SOJA**

Foram analisadas amostras de 100 sementes inoculadas que foram colocadas em erlenmeyer contendo 90 mL de solução fisiológica (NaCl – 0,85%). Foram adicionadas 2 gotas de polioxietilenorbitano monolaurato para primeira lavagem, com agitação por 15 minutos. Após a primeira lavagem a suspensão foi transferida para outro erlenmeyer para segunda lavagem, onde foram adicionados mais 90 mL de solução fisiológica e 2 gotas de p. monolaurato e agitados por mais 15 minutos. A suspensão foi retirada e transferida de volta para o primeiro erlenmeyer e completado o volume para 200 mL com solução fisiológica. Dez mL da suspensão foram misturados com mais 90 mL da solução fisiológica obtendo a primeira diluição em frascos esterilizados. Foi retirado 1 mL da solução e adicionado com 9 mL da solução fisiológica, obtendo a segunda diluição. Esse procedimento foi repetido até a obtenção da sexta diluição.

Cada amostra foi semeada em placa de petri com meio de cultura YMA (Vincent, 1970) e colocada para incubação em estufas de 28°C por um período de 5 a 12 dias. Foram utilizadas 3 repetições para cada tratamento, com faixa de observação de 30 a 300 UFC por placa. O número de células recuperadas/semente foi quantificado pela multiplicação entre o fator de diluição, número médio de colônias por tratamento, volume total da solução de lavagem (200 mL), dividido pelo número de 100 sementes.

## TRATAMENTOS

O inoculante utilizado é recomendado para pré-inoculação associado ao uso de um protetor celular, que auxilia a bactéria fixadora de nitrogênio a cumprir seu metabolismo, facilitando sua simbiose com a planta.

Foi realizado o tratamento das sementes nas doses recomendadas pelo fabricante do defensivo químico, 30, 45 e 60 dias antes do plantio (Figura 2). As sementes tratadas com defensivos foram postas para secar por 4 horas ao ar livre. Após esse período a inoculação foi realizada de forma homogênea segundo dosagem estipulada pelo fabricante de 200 ml/50 kg de semente.

Para o tratamento químico de sementes foram utilizados os seguintes produtos defensivos:

- A - produto inseticida com classe toxológica medianamente tóxico, de contato, sistêmico e por ingestão, do grupo dos piretróides e neonicotinóides, utilizado contra coró-da-soja (*Phyllophaga cuyabana*), dosagem recomendada: 0,30 a 0,70 (p.c) L/100 kg de semente.

- B - inseticida e fungicida de ação protetora, sistêmico e de contato e ingestão (Fipronil), do grupo das estrobilurinas, benzimidazol e precursor de pirazol com tipo de formulação em suspensão concentrada para o tratamento da semente, com rótulo amarelo (altamente tóxico), dosagem recomendada: 200 (p.c) mL/100kg de semente

- C - fungicida que penetra no tegumento da semente e se transloca para toda a plântula após a germinação, usado para controle de doenças de semente e do solo, que causam tombamento em amendoim, feijão, soja entre outras culturas. Dosagem recomendada: 100 (p.c) mL/100 kg de semente.

Os métodos de inoculação utilizados nos ensaios foram realizados com base nas normas oficiais do MAPA, especialmente o Anexo à Instrução Normativa SDA nº 13, de 25/03/2011. Em ambos os experimentos (casa de vegetação e em campo) foi utilizado o delineamento experimental de blocos ao acaso, com 11 tratamentos e quatro repetições, como descrito a seguir:

1. Testemunha sem inoculação e sem nitrogênio mineral;
2. Inoculação com inoculante líquido comum no dia do plantio em sementes não tratadas quimicamente;

3. Inoculação com inoculante líquido para pré-inoculação (ILPI) + Protetor Celular 30 dias antes do plantio e sementes tratadas com o produto A;
4. Inoculação com ILPI + Protetor Celular 30 dias antes do plantio e sementes tratadas com o produto B;
5. Inoculação com ILPI + Protetor Celular 30 dias antes do plantio e sementes tratadas com o produto C;
6. Inoculação com ILPI + Protetor Celular 45 dias antes do plantio e sementes tratadas com o produto A;
7. Inoculação com ILPI + Protetor Celular 45 dias antes do plantio e sementes tratadas com o produto B;
8. Inoculação com ILPI + Protetor Celular 45 dias antes do plantio e sementes tratadas com o produto C;
9. Inoculação com ILPI + Protetor Celular 60 dias antes do plantio e sementes tratadas com o produto A;
10. Inoculação com ILPI + Protetor Celular 60 dias antes do plantio e sementes tratadas com o produto B;
11. Inoculação com ILPI + Protetor Celular 60 dias antes do plantio e sementes tratadas com o produto C.



**Figura 2.** Sementes de soja com diferentes tratamentos químicos, com inoculante + protetor celular comercial, inoculadas com 30, 45 e 60 dias antes do plantio.

**Fonte:** Elaborada pelo autor

### **5.1 Característica da Cultivar**

A cultivar BRS 7780 IPRO desenvolvida pela EMBRAPA é apresentada como sendo transgênica, com ciclo semi-precoce com tipo de crescimento determinado, moderada tolerância ao nematoide de galhas *Meloidogyne incognita*, resistência ao herbicida glifosato e oferece proteção contra as principais lagartas da cultura da soja: lagarta da soja (*Anticarsia gemmatilis*), lagarta falsa medideira (*Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu*), lagarta das maçãs (*Heliothis virescens*) e broca das axilas ou broca dos ponteiros (*Crociosema aporema*), além de supressão às lagartas do tipo Elasm (*Elasmopalpus lignosellus*) e Helicoverpa (*H. zea* e *H. armigera*).

### **5.2 Condução do experimento na Casa de Vegetação**

O experimento em casa de vegetação foi conduzido com a finalidade de contar com condições mais controladas que as condições de plantio em campo, onde havia populações de bactérias fixadoras de nitrogênio já estabelecidas antes do plantio.

A cultivar BRS 7780IPRO foi plantada manualmente em vasos com 3,4 quilogramas de solo (não esterilizado) classificado como Latossolo Vermelho (coletado sob cerrado nativo na profundidade de 0-20 cm). Foram plantadas 9 plantas por vaso na data 08/12/2015 e realizado o desbaste uma semana após o plantio, deixando 3 plantas por vaso. O solo foi corrigido com 2 gramas de calcário dolomítico PRNT de 100%, 2 gramas de Super Fosfato Simples, 166 mg de Cloreto de Potássio e 20 mg de FTE + 80 gramas de palha de arroz, esse último com o objetivo de evitar a mineralização do nitrogênio e sua disponibilização às plantas (Figuras 3 a 8).

A colheita foi realizada na data de 05/01/2016. Foram analisados os seguintes parâmetros: número e massa seca de nódulos e massa seca da parte aérea.



**Figura 3.** Solo corrigido utilizado nos vasos na condução do experimento em casa de vegetação.

**Fonte:** Elaborada pelo autor



**Figura 4.** Enchimento dos vasos com solo no experimento em casa de vegetação.

**Fonte:** Elaborada pelo autor



**Figura 5.** Casca de arroz sendo adicionada aos vasos com solo corrigido, destinado ao experimento em casa de vegetação

**Fonte:** Elaborado pelo autor



**Figura 6.** Utilização de sacos plásticos para homogeneização do solo com a palha de arroz

**Fonte:** Elaborado pelo Autor



**Figura 7.** Solo sendo homogeneizado em sacos plásticos.

**Fonte:** Elaborado pelo autor



**Figura 8.** Plantio do tratamento 10, com o defensivo B e inoculação realizada 60 dias antes do plantio, em casa de vegetação.

**Fonte:** Elaborado pelo autor

### **5.3 Condução do experimento no Campo**

Utilizando a variedade BRS 7780IPRO, o plantio foi realizado na área experimental da Embrapa Cerrados (CPAC), com espaçamento de 50 cm entre linhas e densidade de 12 plantas por metro com parcelas de 4x5 m, por um período de 125 dias, de 08/12/2015 até 11/04/2016 (Figura 9).

O solo utilizado já havia sido cultivado anteriormente com soja, (possuía populações de rizóbios já estabelecidas), foi caracterizado como Latossolo Vermelho escuro (Tabela 1). Devidamente corrigido e adubado com NPK 0-20-20 na proporção de 400 quilogramas por hectare, sem revolvimento do solo, com base no sistema de plantio direto. O plantio foi feito manualmente com média de 50 sementes por linha. Utilizaram-se equipamentos de proteção individual, como luvas e máscaras, para evitar o contato com sementes tratadas com pesticidas.



**Tabela 1.** Resultados da análise química e de matéria orgânica do solo da área experimental, antes do plantio, na profundidade de 0-20 cm. Embrapa Cerrados, Planaltina-DF.

Prof.	pH (H <sub>2</sub> O)	Al	MOS	P	K	Ca	Mg	H+Al
cm		meq dm <sup>-3</sup>	g dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	mg/dm <sup>-3</sup>		meq dm <sup>-3</sup>	
0-20	5,37	0,10	24,45	13	210	2,91	0,94	6,05

Posteriormente, no estágio de crescimento R2, foram analisados o número e a massa seca de nódulos e a massa seca da parte aérea. Por ocasião da colheita, foi avaliada a produtividade da soja.

As análises estatísticas dos experimentos conduzidos em casa de vegetação e campo foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SAS. Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando o teste F foi significativo ( $p < 0,05$ ) procedeu-se o teste de Tukey para separação das médias ( $p < 0,05$ ).



**Figura 9.** Experimento conduzido em campo envolvendo tratamentos químicos e pré-inoculação + protetor celular, realizados aos 30, 45 e 60 dias antes do plantio.

**Fonte:** Autoria de Karolyne Lopes.



## **6 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.1 Avaliação do inoculante e número de células nas sementes antes do plantio.**

A contagem de células de bradimirizóbios no inoculante líquido comercial apresentou uma alta concentração, da ordem de  $2,2 \times 10^{10}$  UFC/g do produto, sendo superior ao exigido pelo MAPA ( $1,0 \times 10^9$  UFC/g).

Os dados de contagem obtidos no dia do plantio foram utilizados para comparar os números de células de bradimirizóbios em sementes dos 10 tratamentos contendo sementes inoculadas com ILPI + Protetor Celular, tratadas com os diferentes produtos testados: A, B e C (Tabela 2). Além desses tratamentos, também foi utilizado um controle, onde as sementes foram inoculadas com um inoculante padrão, no dia do plantio.

A concentração de células nas sementes tratadas com o defensivo C e armazenadas por 30, 45 e 60 dias, assim como, nas sementes tratadas com os defensivos A e B aos 60 dias antes do plantio, foi similar aquela observada no tratamento controle, onde as sementes foram inoculadas no dia do plantio com o inoculante padrão. De maneira geral, essa observação está de acordo com as altas concentrações de células observadas nesses tratamentos, logo após a inoculação (dados não apresentados). Os outros tratamentos com utilização de defensivos químicos, apresentaram redução significativa no número de células viáveis aderidas às sementes de soja, quando comparados ao controle. Essa redução pode ter ocorrido pela toxicidade dos produtos defensivos utilizados nos tratamentos juntamente com a inoculação. Segundo Zilli et al. (2010) a adição de pesticidas podem trazer impactos à nodulação. Aparentemente, o fator tempo de armazenamento após a inoculação tem pouca influência sobre esses resultados.

Hoje, se preconiza como dosagem ideal de inoculantes para a soja, em ambientes tropicais, aquela baseada no número de 1.200.000 células viáveis de bradimirizóbios por semente (HUNGRIA et al., 2017). No entanto, esse pode ser considerado um número teórico, recomendado para cálculos das doses de inoculante a serem utilizadas pelos agricultores. Na prática, nem todas as células podem ficar aderidas às sementes, contando muito o tempo de exposição, o uso

de adesivos e protetores, a formulação do inoculante, entre outros. Em uma série de análises e ensaios conduzidos na Embrapa Soja nos últimos anos, foi constatado que a recuperação de células nas sementes de soja, para garantir uma nodulação satisfatória, deve ser de, no mínimo, 100.000 bactérias por semente (AGROLINK, 2015). Portanto, é interessante notar que, em nenhum dos tratamentos, o número de células recuperadas das sementes foi inferior a 100.000, tido como o mínimo necessário para promover uma nodulação satisfatória.

**Tabela 2.** Concentração de células de *Bradyrhizobium* na superfície das sementes inoculadas com ILPI + Protetor Celular e tratadas com diferentes produtos no dia do plantio da soja (médias de três repetições).

Tratamento	n° de células/semente x 10 <sup>5</sup>
Inoculante padrão no dia do plantio, sementes não tratadas	24,4 a
ILPI + Protetor Celular 30 DAP, sementes tratadas com defensivo A	1,5 c
ILPI + Protetor Celular 30 DAP, sementes tratadas com defensivo B	2,2 c
ILPI + Protetor Celular 30 DAP, sementes tratadas com defensivo C	10,1 a
ILPI + Protetor Celular 45 DAP, sementes tratadas com defensivo A	1,2 c
ILPI + Protetor Celular 45 DAP, sementes tratadas com defensivo B	2,0 bc
ILPI + Protetor Celular 45 DAP, sementes tratadas com defensivo C	9,4 a
ILPI + Protetor Celular 60 DAP, sementes tratadas com defensivo A	8,9 a
ILPI + Protetor Celular 60 DAP, sementes tratadas com defensivo B	16,3 a
ILPI + Protetor Celular 60 DAP, sementes tratadas com defensivo C	7,4 ab

\* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si de acordo com o Teste Tukey (p < 0,05)

## 6.2 Experimento realizado na Casa de Vegetação.

Todos os tratamentos apresentaram maior número de nódulos que o tratamento controle, não inoculado (Tabela 3). Mesmo nos tratamentos que tiveram o número de células viáveis por semente reduzido, a nodulação não foi afetada, pois, apresentaram o mesmo número de nódulos que as plantas que tiveram suas sementes inoculadas no dia do plantio, sem tratamento químico. Refletindo o resultado obtido para o número de nódulos, apenas o controle não inoculado, com valor quase nulo (6mg/planta), se diferenciou dos demais tratamentos (Tabela 3). Esses resultados são importantes, pois, mostram que o ILPI + Protetor Celular foi capaz de manter um número de células adequado e com suas funções fisiológicas em condições promover a nodulação em plantas, cujas sementes foram pré-inoculadas e armazenadas por até 60 dias antes do plantio e tratadas com produtos químicos.

No trabalho de Costa et al. (2013), por exemplo, é relatado que a utilização de um fungicida a base de carbendazim + thiram e outro a base de fludioxonil + mefenoxam causaram efeito levemente tóxico sobre a nodulação. Esses autores utilizaram solos provenientes de mata nativa, que também não possuíam populações eficientes de *Bradyrhizobium*. No presente trabalho, a utilização do ILPI + Protetor Celular, provavelmente, protegeu as células desse efeito negativo sobre a nodulação.

A massa seca da parte aérea por planta não se alterou significativamente em relação à testemunha, não havendo diferenças estatísticas entre nenhum dos tratamentos avaliados para esse parâmetro (Tabela 3). Esse resultado sugere que essas plantas, que praticamente não nodularam, conseguiram aporte de nitrogênio do solo. Devido a essa presença de nitrogênio no solo, não foi evidente a correlação entre nodulação e massa seca da parte aérea.

**Tabela 3.** Nodulação e massa seca da parte aérea aos 30 dias em função da inoculação com ILPI + Protetor Celular e tratamento de sementes com diferentes produtos aos 30, 45 e 60 dias antes do plantio em vasos preenchidos com Latossolo Vermelho de cerrado, sem população estabelecida de bradirrizóbios.

Tratamentos	Nodulação por planta		Massa seca da parte aérea por planta (g)
	Numero	Massa Seca (mg)	
Testemunha sem inoculação e sem N mineral	1 b	6 b	1,20
Inoculante padrão no dia do plantio, sementes não tratadas	27 a	97 a	1,17
ILPI + Protetor Celular 30 DAP, sementes tratadas com defensivo A	17 a	92 a	1,32
ILPI + Protetor Celular 30 DAP, sementes tratadas com defensivo B	14 ab	84 a	1,24
ILPI + Protetor Celular 30 DAP, sementes tratadas com defensivo C	20 a	97 a	1,21
ILPI + Protetor Celular 45 DAP, sementes tratadas com defensivo A	15 a	77 a	1,12
ILPI + Protetor Celular 45 DAP, sementes tratadas com defensivo B	20 a	95 a	1,18
ILPI + Protetor Celular 45 DAP, sementes tratadas com defensivo C	21 a	103 a	1,15
ILPI + Protetor Celular 60 DAP, sementes tratadas com defensivo A	23 a	87 a	1,20
ILPI + Protetor Celular 60 DAP, sementes tratadas com defensivo B	22 a	100 a	1,19
ILPI + Protetor Celular 60 DAP, sementes tratadas com defensivo C	19 a	100 a	1,22
CV(%)	30,75	18,27	13,68 (ns)

ns = Teste F não significativo ( $p < 0,05$ )

Valores seguidos de mesma letra, na coluna, não se diferem pelo teste de Tukey com 5% de significância.

### **6.3 Experimento realizado em campo**

Com relação ao experimento de campo, com exceção da massa seca de nódulos em R2, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, para todos os parâmetros avaliados (Tabelas 4 e 5).

O número de nódulos em plantas cujas sementes foram inoculadas até 60 dias antes do plantio com protetor celular e defensivos químicos (fungicidas e inseticidas) foram similares quando comparados aos controles, Tratamento 1 (sem inoculante) e Tratamento 2 (inoculação no dia do plantio em sementes não tratadas quimicamente) (Tabela 4).

Essa ausência de diferenças entre os tratamentos pode ser explicada pelo fato de que área utilizada para o experimento apresenta histórico de plantios anteriores de soja, contendo populações estabelecidas de rizóbios eficientes, que estaria colonizando o controle não inoculado e igualando-o todos os outros tratamentos.

Oliveira (2010) observou que quanto mais células viáveis aderidas às sementes de soja, melhor será a nodulação e seus efeitos. Os ganhos em áreas já cultivadas com bradirizóbios apresentam-se expressivos em comparação com áreas onde não apresentam populações estabelecidas. O que justifica que a presença de bactérias eficientes no solo do experimento em campo acabou impossibilitando a observação das diferenças de nodulação entre tratamentos.

No tratamento em que as sementes foram pré-inoculadas com ILPI + Protetor Celular aos 30 DAP e tratadas com o defensivo B, a massa seca de nódulos foi superior à testemunha sem inoculação e aos tratamentos com ILPI + Protetor Celular aos 45 DAP tratadas com o defensivo B, ILPI + Protetor Celular aos 60 DAP tratadas com o defensivo A e ILPI + Protetor Celular aos 45 DAP tratadas com o defensivo C (Tabela 4). Não foram observadas diferenças entre os demais tratamentos. Essas observações isoladas são de difícil interpretação e não foram traduzidas em diferenças no rendimento de grãos ao final do experimento.

A massa seca da parte aérea (Tabela 4) e a produtividade (Tabela 5), também apresentaram semelhança com controle (sem inoculação) para todos os tratamentos. Além da questão das populações estabelecidas de bradirrizóbios, já discutida anteriormente, possivelmente, a fertilidade do solo utilizado no experimento forneceu suporte nutricional, incluindo N, para planta cumprir com seu desenvolvimento, mesmo sem o uso de inoculantes.

Mais pesquisas e experimentos à campo devem ser realizados voltados para quantificação da eficiência agronômica da inoculação feita com antecedência, utilizando protetores celulares, em sementes tratadas com defensivos químicos. De preferência, devendo ser conduzidos em solos cuja fertilidade seja baixa e que não possua populações eficientes de bradirrizóbios pré-estabelecidas.

**Tabela 4.** Nodulação em R2 e massa seca da parte aérea em função da inoculação com ILPI + Protetor Celular e tratamento de sementes com diferentes produtos aos 30, 45 e 60 dias antes do plantio em um Latossolo Vermelho de cerrado com população estabelecida de bradirrizóbios.

Tratamentos	Nodulação por planta		Massa seca da parte aérea por planta (g)
	Florescimento (R2) Numero	Massa Seca (mg)	
Testemunha sem inoculação e sem N mineral	40	110 b	5,28
Inoculante padrão no dia do plantio, sementes não tratadas	41	117 ab	5,65
ILPI + Protetor Celular 30 DAP, sementes tratadas com defensivo A	49	141 ab	4,65
ILPI + Protetor Celular 30 DAP, sementes tratadas com defensivo B	57	172 a	6,40
ILPI + Protetor Celular 30 DAP, sementes tratadas com defensivo C	40	131 ab	6,12
ILPI + Protetor Celular 45 DAP, sementes tratadas com defensivo A	39	121 ab	5,25
ILPI + Protetor Celular 45 DAP, sementes tratadas com defensivo B	34	113 b	5,35
ILPI + Protetor Celular 45 DAP, sementes tratadas com defensivo C	37	116 ab	5,12
ILPI + Protetor Celular 60 DAP, sementes tratadas com defensivo A	31	110 b	5,77
ILPI + Protetor Celular 60 DAP, sementes tratadas com defensivo B	44	130 ab	5,52
ILPI + Protetor Celular 60 DAP, sementes tratadas com defensivo C	40	108 b	6,92
CV(%)	26,10 (ns)	19,29	17,47 (ns)

ns = Teste F não significativo ( $p < 0,05$ )

Valores seguidos de mesma letra, na coluna, não se diferem pelo teste de Tukey com 5% de significância.



**Tabela 5.** Massa seca de mil grãos, rendimento da soja e teor de nitrogênio nos grãos em função da inoculação com ILPI + Protetor Celular e tratamento de sementes com diferentes produtos aos 30, 45 e 60 dias antes do plantio em um Latossolo Vermelho de cerrado com população estabelecida de bradirrizóbios.

Tratamentos	Rendimento grãos (kg/ha)
Testemunha sem inoculação e sem N mineral	2888
Inoculante padrão no dia do plantio, sementes não tratadas	2941
ILPI + Protetor Celular 30 DAP, sementes tratadas com defensivo A	2644
ILPI + Protetor Celular 30 DAP, sementes tratadas com defensivo B	2827
ILPI + Protetor Celular 30 DAP, sementes tratadas com defensivo C	2749
ILPI + Protetor Celular 45 DAP, sementes tratadas com defensivo A	2782
ILPI + Protetor Celular 45 DAP, sementes tratadas com defensivo B	2670
ILPI + Protetor Celular 45 DAP, sementes tratadas com defensivo C	2737
ILPI + Protetor Celular 60 DAP, sementes tratadas com defensivo A	2876
ILPI + Protetor Celular 60 DAP, sementes tratadas com defensivo B	2858
ILPI + Protetor Celular 60 DAP, sementes tratadas com defensivo C	2890
CV(%)	9,07 (ns)

ns = Teste F não significativo ( $p < 0,05$ )

## **7 CONCLUSÕES**

A pré-inoculação com inoculante + protetor celular, em sementes com tratamento químico pode diminuir o número de células aderidas as sementes. Porém, são mantidos valores acima do mínimo necessário para garantir uma boa nodulação (100.000 células/semente).

De maneira geral, as plantas pré-inoculadas, tratadas com produtos químicos, não têm sua nodulação prejudicada, apontando para um efeito benéfico do inoculante + protetor celular utilizados nesse estudo.

Como o rendimento de grãos (produtividade) em nenhum dos tratamentos se mostrou estatisticamente superior ao controle sem inoculação, de acordo com as instruções do MAPA, não é possível uma conclusão sobre a eficácia agronômica dos produtos testados.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROLINK. ANPIL alerta sobre os riscos de sementes pré-inoculadas. Disponível em <[http://www.agrolink.com.br/noticias/anpii-alerta-sobre-os-riscos-de-sementes-pre-inoculadas\\_220183.html](http://www.agrolink.com.br/noticias/anpii-alerta-sobre-os-riscos-de-sementes-pre-inoculadas_220183.html)> Publicado em 22/06/15.

ALMEIDA, L. A. DE; AFONSO, R.; KIIHL, D. S.; et al. Melhoramento da soja para regiões de baixas latitudes. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**, p. 15, 1999.

ATSUMI, C.; SEDIYAMA, Z. TRATAMENTO ANTECIPADO DE SEMENTES DE SOJA COM FUNGICIDA, PROTETOR CELULAR E INOCULANTE. **Biblioteca Central da UFV**, p. 92, 2012.

BINOTTO FAGAN, E.; P MEDEIROS, S. L.; MANFRON, P. A.; et al. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja - Revisão. **Revista da FZVA**, v. 14, n. 1, p. 89–106, 2007. Disponível em: <<http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fzva/article/view/2481>>. .

BORKERT, C. M.; YORINORI, J. T.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; et al. Seja o Doutor da sua Soja. **Potafós**, v. 66, n. 5, p. 1–17, 1994.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, v. 30, n. 2, p. 365–372, 2000. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782000000200029&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782000000200029&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. .

CÂMARA, G. M. DE S. INTRODUÇÃO AO AGRONEGÓCIO SOJA. **USP/ESALQ - Departamento de Produção Vegetal**, p. 1–30, 1998.

CARLOS, S.; CRUZ, S.; GERALDO, D.; et al. Cultivo de soja sob diferentes densidades de semeadura e arranjos espaciais. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 3, n. 1, p. 1–6, 2016.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - (CONAB). Acompanhamento da Safra Brasileira - Grãos. **Observatório Agrícola**, v. 2, n. 4, p. 1–60, 2016.

CONSALTER, L. **Eficiência do uso de fertilizantes, fungicidas e inoculante no tratamento de sementes de soja**. 2009.

CORRÊA, J. C.; MAUAD, M.; ROSOLEM, A.; ROSOLEM, C. A. Phosphorus in soil and soybean growth as affected by phosphate fertilization and cover crop residues. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 39, n. 12, p. 1231–1237, 2004. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-15744386191&partnerID=40&md5=ddbcd03ac7a64a2e5506e97bedc573b3>>. .

COSTA, M. R.; CRISTINA, J.; CAVALHEIRO, T.; et al. Sobrevivência de *Bradyrhizobium japonicum* em sementes de soja tratadas com fungicidas e os efeitos sobre a nodulação e a produtividade da cultura. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 25, p. 186–192, 2013.

COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLLI, P. F.; PAIVA, W. M.; YORINI, J. T. Ferrugem da soja (*Phakopsora pachurhizi*): Identificação e Controle. **Embrapa Soja, Documentos 204**, v. 1, n. 54, p. 5–8, 2003.

DEPEC. **DEPEC – Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos OUTUBRO DE 2016**. 2016.

DEUBER, R.; SOARES, M. **Nodulação e desenvolvimento de plantas de soja iac-19 com aplicação dos herbicidas diclosulam e flumetsulam**. 2006.

DUPRAT, L. A.; CONTE, A. C. **Relatório de avaliação dos impactos das tecnologias geradas pela Embrapa**. 2014.

FAGUNDES, P.; SILVA, R.; COSTA, A.; CANTELLI, D.; MARTINS, M. **Efeito do tratamento de sementes na nodulação e crescimento inicial da cultura da soja**. 2013.

FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N. Ecofisiologia da Soja. **Embrapa - Circular Técnica 48**, p. 9, 2007. Disponível em: <[https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/circtec48\\_000g3bkhmrq02wx5ok0r2ma0nxz1b1po.pdf](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/circtec48_000g3bkhmrq02wx5ok0r2ma0nxz1b1po.pdf)>. .

FIGUEIREDO, M. DO V. B.; JÚNIOR, M. DE A. L.; ARAÚJO, A. S. F. DE; MARTINEZ, C. R. **Fatores bióticos e abióticos à fixação biológica de N<sub>2</sub>**. 2000.

FILHO, J. M. Maturidade fisiológica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 15, n. 1930, p. 447–460, 1980.

FPDTRV. Avaliação de cultivares de soja convencional (soja livre) em lucas do rio verde, mt. **Fundação de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico Rio Verde**, 2013.

FREITAS, M. DE C. M. DE. A cultura da soja no Brasil: o crescimento da produção brasileira e o surgimento de uma nova fronteira agrícola. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v. 7, n. 1, p. 1–12, 2011. Disponível em: <[http://www.conhecer.org.br/enciclop/2011a/agrarias/a cultura da soja.pdf](http://www.conhecer.org.br/enciclop/2011a/agrarias/a%20cultura%20da%20soja.pdf)>. .

GODOY, C. V.; MANUEL, Á.; ALMEIDA, R.; et al. Doenças Da Soja ( Glycine max ( L .) Merrill ). **SOCIEDADE BRASILEIRA DE FITOPATOLOGIA (SBF)**, p. 1–32, 2014.

HENNING, A. A.; MANUEL, Á.; ALMEIDA, R.; et al. Manual de Identificação de Doenças de Soja - Documentos 256. **Embrapa Soja - Documentos 256**, 2005.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; KASTER, M. COMPATIBILIDADE DE USO DE INOCULANTES E FUNGICIDAS NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA. **Embrapa Soja - Circular Técnica 26**, p. 32, 2000.

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S.; SILVA JUNIOR, E.B.; ZILLI, J.E. Inoculum rate effects on the soybean symbiosis in new or old fields under tropical conditions. *Soil Fertility and Crop Nutrition*, 109: 1 – 7, 2017.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Fixação Biológica Do Nitrogênio. **Embrapa Soja - Circular Técnica 36**, p. 48, 2001.

HUNGRIA, M.; MENDES, I.; BUENO, F.; MARTINS, F. Estratégias para Aumentar a Eficiência de Inoculantes Microbianos na Cultura da Soja. **Embrapa Agropecuária Oeste - Comunicado Técnico 169**, p. 4, Sep. 2011. Planaltina.

KORNDÖRFER, G. H. Correção Do Solo E Adubação Da Soja Nos Cerrados. **Universidade Federal Uberlândia**, 1988.

LIMA, T. M. EXIGÊNCIAS TÉRMICAS E FOTOPERIÓDICAS DA CULTURA DA SOJA NA REGIÃO DE PLANATINA – DISTRITO FEDERAL. **Universidade de Brasília - UnB**, p. 29, 2014.

LUDWIG, M. P.; DUTRA, L. M. C.; LUCCA FILHO, O. A.; et al. Características

morfológicas de cultivares de soja convencionais e Roundup Ready™ em função da época e densidade de semeadura. **Ciência Rural**, v. 40, n. 4, p. 759–767, 2010. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782010000400003&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782010000400003&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. .

MANDARINO, J. M. G.; ROESSING, A. C. Tecnologia para Produção de Óleo de Soja: Descrição das Etapas, Equipamentos, Produtos e Subprodutos. **Embrapa Soja - Documentos 171**, p. 43, 2015.

MARCANDALLI, L. H. Cobertura Na Região Dos Chapadões. **FertBio**, p. 4, 2008.

MARCONDES, J. A. P.; CAIRES, E. F. Aplicação de molibdênio e cobalto na semente para cultivo da soja. **Bragantia**, v. 64, n. 4, p. 687–694, 2005.

MARKS, B. B. **AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DE BRADIRRIZÓBIOS EM SEMENTES DE SOJA TRATADAS COM FUNGICIDAS, PROTETOR CELULAR “POWER” E O INOCULANTE “NITRAGIN OPTIMIZE.”** 2008.

MARQUES, A. L.; COIMBRA, R. D.; AMAZONAS, L.; et al. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. **Companhia Nacional de Abastecimento**, v. 3, n. 4, p. 1–154, 2016. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_01\\_12\\_09\\_00\\_46\\_boletim\\_graos\\_janeiro\\_2016.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_01_12_09_00_46_boletim_graos_janeiro_2016.pdf)>. .

MENTEN, J. O.; MORAES, M. H. D. Tratamento De Sementes: Histórico, Tipos, Características E Benefícios. **Informativo ABRATES**, v. 20, n. 3, p. 52–53, 2010.

MILKO, P. Moratória da Soja : o cultivo. **Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais, Associação Nacional dos Exportadores de Cereais**, 2008.

MITIETERUYA, C. **Aplicação da análise por ativação com nêutrons para a determinação de elementos essenciais e tóxicos em subprodutos agroindustriais utilizados na alimentação animal.** 1999.

MORANDO, R.; SILVA, A. O. DA; CARVALHO, L. C.; M A PINHEIRO, M. P. Déficit Hídrico: Efeito Sobre a Cultura Da Soja. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 3, n. 1, p. 114–129, 2014.

NICOLODI, J. Patogenicidade, esporulação e interação entre temperatura e período de molhamento foliar na intensidade da mancha foliar “Olho-de-Rã” em Soja. **Universidade de Passo Fundo**, , n. 54, p. 117, 2012.

OLIVEIRA, J. S. M. C. N. DE. Soja Molibdeno e Cobalto. **Embrapa Soja - Documentos 322**, p. 36, 2010.

OSAKI, M. Técnicas da Agropecuária no Brasil Panorama econômico do cultivo de milho e soja no Brasil. **Programa do I Seminário sobre Perspectivas Econômicas e Técnicas da Agropecuária no Brasil**, p. 38, 2008.

PICININI, E.; FERNANDES, J. Doenças da soja: diagnose, epidemiologia e controle. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Documentos 16**, p. 105, 2003. Disponível em: <<http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=ACERVO.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expression=mfn=022640>>. .

RAGAGNIN, V. A.; SENA JÚNIOR, D. G. DE; DIAS, D. S.; BRAGA, W. F.; NOGUEIRA, P. D. M. Growth and nodulation of soybean plants fertilized with poultry litter. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 37, n. 1, p. 17–24, 2013. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-70542013000100002&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542013000100002&lng=en&nrm=iso&tlng=en)>. .

RUGGIERO, P. G. C.; PIVELLO, V. R.; SPAROVEK, G.; TERAMOTO, E.; PIRES NETO, A. G. Relação entre solo, vegetação e topografia em área de cerrado (Parque Estadual de Vassununga, SP): como se expressa em mapeamentos? **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 2, p. 383–394, 2006.

SFREDO, G. J.; LANTMANN, Á. F. ENXOFRE Nutriente necessário para maiores rendimentos da soja. **Circular técnica**, v. 1, n. 1, p. 1–6, 2007.

SFREDO, G. J. SOJA: Adubação e Calagem no Brasil. , v. 5494, n. i, 1991.

TADASHI, J.; LAZZAROTTO, J. Situação da Ferrugem Asiática da Soja no Brasil e na América do Sul. **Embrapa Soja - Documentos 236**, p. 28, 2004.

TAKAHARA, E.; TANNO, F. EDUCAÇÃO INFANTIL DO MUNICÍPIO DE IBIPORÃ-PR EDUCAÇÃO INFANTIL DO MUNICÍPIO DE IBIPORÃ-PR. **Universidade Tecnológica Federal do Paraná- UTFPR**, p. 1–49, 2013.

TIMM, D. Extrato de Soja: características, métodos de obtenção e compostos benéficos à saúde humana. **UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS Departamento de Ciências dos Alimentos**, p. 0–33, 2008.

TOMAZIN JUNIOR, C. Extração de óleo de soja com etanol e transesterificação etílica na miscela. **Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo**, p. 72, 2008.

TRENTIN, R.; HELDWEIN, A. B.; STRECK, N. A.; TRENTIN, G.; SILVA, J. C. DA. Subperíodos fenológicos e ciclo da soja conforme grupos de maturidade e datas de semeadura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 7, p. 703–713, 2013.

VIEIRA, L.; LOURENÇO, J.; BRAGA, C.; SOARES, D. Extrato hidrossolúvel de soja (leite de soja) com sabores de frutas da amazônia. **EMBRAPA-CPATU - Documentos 80**, p. 20, 1994.

VINCENT, J. M. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. Oxford: Blackwell Scientific (International Biological programme Handbook, 15), 1970.

VITTI, G. C.; TREVISAN, W. Manejo de macro e micronutrientes para alta produtividade da soja. **Potafos**, v. 90, p. 16, 2000.

ZILLI, J. É.; CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Eficácia da inoculação de *Bradyrhizobium* em pré-semeadura da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 3, p. 335–338, 2010. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-204X2010000300015&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2010000300015&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>.